

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ ХРОМАТОГРАФІЇ У ДОСЛІДЖЕННЯХ СКЛАДУ БІОМАСИ МУКОВОГО ГРИБА *BLAKESLEA TRISPORA*

Логвінова О.В.

Науковий керівник - к.б.н., доцент Прімова Л.О.

СумДУ, кафедри біофізики, біохімії, фармакології та біомолекулярної інженерії

Сучасний рівень розвитку біотехнології дозволяє використовувати міцеліальні гриби як продуценти широкого спектру хімічних сполук – регуляторів росту, антибіотиків, вітамінів, амінокислот, есенційних жирних кислоти тощо. Мікроскопічний муковий гриб *Blakeslea trispora* - продуцент β -каротину, але поряд із терпеноїдами здатен акумулювати у складі міцелію та виділяти у культуральне середовище інші первинні та вторинні метаболіти ліпідної, тетрапірольної та білкової природи, які можуть бути використані для створення лікувальних, лікувально-профілактичних препаратів, харчових та кормових добавок. Біосинтетичні властивості продуцента і відповідно, хімічний склад біомаси, варіює в залежності від штаму гриба, умов культивування, складу поживного середовища. Сучасні методи виділення окремих біологічно активних речовин ліпідної та білкової природи з біомаси гриба *Blakeslea trispora* дозволяють дослідити її хімічний склад і у подальшому використовувати як комплекс біологічно активних речовин.

Метою досліджень було встановлення амінокислотного складу біомаси мукового гриба *Blakeslea trispora* методом іонообмінної хроматографії та виділення β -каротину із суми загальних каротиноїдів методом розподільної хроматографії на колонках. У дослідженнях використано біомасу мукового гриба *Blakeslea trispora*, яка отримана шляхом культивування продуцента на експериментальному напівсинтетичному поживному середовищі, в якому основним джерелом азоту є $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Якісний та кількісний склад амінокислот визначали у солянокислих гідролізатах білка біомаси на високошвидкісному автоматичному амінокислотному аналізаторі моделі 835 фірми "Hitachi", Японія. Білковий гідролізат пропускали через колонку, заповнену іонооб-мінними смолами. Через колонку проходив буферний розчин, рН та іонна сила якого поступово збільшувались. Елюат, що виходив з колонки, забарвлювався у червоно-фіолетовий колір розчином нінгідрину. Інтенсивність забарвлення елюату вимірювалась автома-тично на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 570 нм і реєструвалася у вигляді піків, які відповідали окремим амінокислотам. Кількість амінокислот визначали за площею піків. Загальні каротиноїди екстрагували із зразків біомаси ацетоном у присутності Na_2CO_3 . З ацетонового екстракту пігменти переводили у петролейний ефір. Петролейний ефірний екстракт зневоднювали, пропускаючи його через колонку з безводним сульфатом натрію. Бета-каротин виділяли із сумарних каротиноїдів на колонках з оксидом алюмінію, ксантофіли екстрагували етиловим спиртом. Кількість пігментів встановлювали фотоколори-метрично за інтенсивністю забарвлення розчинів у порівнянні з розчином біхромату калію, стандартизованого за каротином.

За результатами досліджень у зразках біомаси гриба *Blakeslea trispora* ідентифіковано 17 амінокислот, серед яких переважають есенційні. Пік триптофану на хроматограмі відсутній, через руйнування його під час гідролізу; найбільший пік відповідає метіоніну, який у більшості білків є лімітуючою амінокислотою. Незвичайно висока концентрація метіоніну - 40,9 г/кг, вірогідно, зумовлена наявністю у культуральному середовищі значної кількості сульфатів амонію, заліза, цинку. Серед інших амінокислот переважають - Глу, Асп, Лей; відмічено незначну кількість Фен, Іле, Гіс, Тир, вміст інших амінокислот у межах середніх значень.

У ході хроматографічного розділення пігментів у зразках біомаси встановлено, що 89,0% у всіх каротиноїдів представлені β -каротином, 9,6% становлять ксантофіли, 1,6% - інші каротиноїди. Вміст β -каротину у міцелії гриба, суттєво вищий ніж у інших традиційних рослинних джерелах цього пігменту.

Таким чином, використання методів високошвидкісної іонообмінної та розподільної хроматографії для вивчення амінокислотного складу та спектру каротиноїдів біомаси гриба *Blakeslea trispora* дозволяє з'ясувати особливості хімічного складу різних штамів продуцента, у залежності від умов культивування, потребу в окремих амінокислотах, інтенсивність каротиногенезу. Результати досліджень можуть бути використані для обґрунтування напрямків удосконалення існуючих та розроблення нових технологій виробництва біотехнологічних препаратів на основі біомаси гриба *Blakeslea trispora* та рекомендацій щодо використання її як комплексу біологічно активних речовин.